Gélose au Dichloran-Glycérol (DG 18)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au Dichloran-Glycérol (DG 18) est recommandée pour le dénombrement des levures et des moisissures se développant sur un milieu à faible a_w (inférieure à 0,96) Elle convient notamment pour la numération et l'isolement des moisissures xérophiles se trouvant dans les produits déshydratés ou peu hydratés fortement sucrés ou salés, les fruits secs, les céréales, les biscuits, les farines, ainsi que les autres produits déshydratés à base de viande ou de poisson destinés à l'alimentation humaine ou animale. Le milieu permet de diminuer la taille des thalles de moisissures et des colonies de levures, afin de faciliter leur comptage.

HISTORIQUE

La gélose au Dichloran-Glycérol est dérivée de la formule décrite en 1980, par Hocking et Pitt, pour la numération des moisissures se développant dans les produits à faible taux d'humidité. En 2001, Deak *et al.* ont démontré, à la faveur d'une étude comparative, que les cultures de *Brettanomyces anomalus*, *Cryptococcus albidus*, et *Rhodotorula mucilaginosa* étaient particulièrement retardées, voire inhibées sur le milieu. Par contre, les levures xérophiles telles que *Zygosaccharomyces rouxxi,* cultivent très aisément. Ces auteurs en concluent que le milieu DG 18 est plus particulièrement adapté aux produits à faible taux d'humidité et qu'en conséquence, il n'est pas d'application universelle pour les numérations d'un large spectre de levures et moisissures contaminant l'ensemble des produits alimentaires.

PRINCIPES

- La Tryptone et le glucose assurent la croissance des levures et des moisissures.
- La concentration en glycérol à 18% permet de diminuer l'activité de l'eau de 0,999 à 0,955.
- Le dichloran inhibe l'envahissement par les mucorales et diminue la taille des autres colonies.
- La présence de chloramphénicol, antibiotique thermostable, permet de renforcer la sélectivité du milieu vis-à-vis de la plupart des bactéries contaminantes.

PREPARATION

- Mettre en suspension 29,6 g de milieu de base déshydraté (BK170) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Ajouter 220,0 g de glycérol.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTA :

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

MODE D'EMPLOI

- Si le milieu est préparé à l'avance ou bien avec le milieu complet (avec glycérol) prêt-à-liquéfier BM109, faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 47°C.
- Transférer 1 mL du produit à analyser et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler 10 à 15 mL de milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à (25 ± 1)°C pendant 5 jours.

NOTA :

L'ensemencement peut également être réalisé en surface.

LECTURE

Procéder au comptage des colonies de levures et des thalles de moisissures. Ne retenir que les boîtes contenant moins de 150 unités formant thalles ou colonies.

FORMULE – TYPE du milieu complet (avec glycérol)
(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 5,0 g
- Glucose ..... 10,0 g
- Phosphate monopotassique ..... 1,0 g
- Sulfate de magnésium, 7 H_2O ..... 0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline) ..... 2,0 mg
- Chloramphénicol ..... 0,1 g
- Glycérol ..... 220,0 g
- Agar agar bactériologique ..... 13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,6 ± 0,2.

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose ambrée.
- Réponse culturale typique après 5 jours d'incubation à 25°C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
Saccharomyces cerevisiae	ATCC® 9763	$P_R \geq 50\%$
Candida albicans	ATCC 10231	$P_R \geq 50\%$
Aspergillus brasiliensis	DSM 1988	$P_R \geq 50\%$
Escherichia coli	ATCC 25922	inhibée
Bacillus subtilis	ATCC 6633	inhibée

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté (milieu de base sans glycérol) : 2-8°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé complet (à titre indicatif) :
- Milieu en flacons : 3 mois à 2-8°C, à l'abri de la lumière.
- Milieu en boîtes : 8 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière.

Milieu prêt-à-liquéfier complet (avec glycérol) en flacons :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

	Code
Milieu prêt-à-liquéfier complet (avec glycérol) :	
- Coffret de 10 flacons de 100 mL	BM10908
Milieu déshydraté (milieu de base sans glycérol) :	
- Flacon de 500 g	BK170HA

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hocking, A.D., and Pitt, J.I. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. App. Environ. Microbiol.,39: 488-492.

Deak, T., Chen, J., Golden, D.A., Tapia, M.S., Tornai-Lehoczki, J., Viljoen, B. C., Wyder, M.T., and Beuchat, L.R. 2001. Comparison of dichloran 18% glycerol (DG18) agar with general purpuse mycological media for enumerating food spoilage yeasts. Inter. Jour. of Food Microb. 67: 49-53.

NF V 08-036. Mai 2003. Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures se développant sur un milieu à faible a_w.

XP CEN ISO/TS 11133-2. Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF ISO 21807. Janvier 2005. Microbiologie des aliments. Détermination de l'activité de l'eau.

NF ISO 21527-2. Novembre 2008 (2^{nd} tirage). Microbiologie des Aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et des moisissures – Partie 2 : Technique par comptage des colonies dans le produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0,95.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-01-12.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK170/F/2003-04 : 7.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr